Münster i/W. 1934. No 66 Med Dis

Aus dem hygienischen Institut der Medizinischen Akademie
in Düsseldorf
Direktor: Prof. Dr. Manteufel.

Untersuchungen mit dem Desinfektionsmittel Carvasept

(Philipp & Kuhn)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Würde eines

doctor medicinae

durch die

Medizinische Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität in Münster

in Gemeinschaft mit der Medizinischen Akademie

in Düsseldorf.

Vorgelegt von

A. Müller

aus Düsseldorf.

1934

Dissertationsdruckerei und Verlag Konrad Triltsch, Würzburg.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Akademie in Düsseldorf und der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität in Münster.

gez.: **Schmidt**
Rektor der Med. Akademie in Düsseldorf.

gez.: **Esch**
Dekan der Med. Fakultät Münster.

gez. **Manteufel**
1. Berichterstatter.

gez.: **Jötten**
2. Berichterstatter.

Angenommen am: 2. VI. 1934.

Ich versichere hiermit an Eidesstatt, daß ich die vorliegende Arbeit ohne unerlaubte fremde Hilfe angefertigt habe.

Alois Müller.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

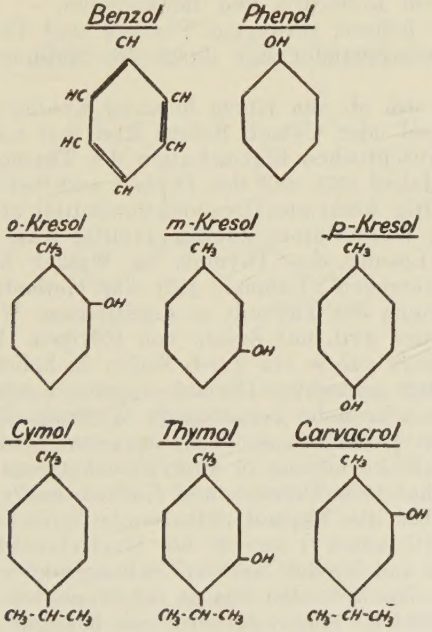
Meinen Eltern in Dankbarkeit!

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547224_0074

Die Desinfektionswirkung der Phenole, insbesondere der Karbolsäure, ist heute fast hundert Jahre bekannt (seit 1834). Da sich aber bei der praktischen Verwendung der Phenole Schwierigkeiten ergaben, ist unentwegt daran gearbeitet worden, bessere Präparate aus der Reihe der Phenole und ihrer höheren Derivate zu schaffen. Das letzte Glied aller dieser Bemühungen ist das hier untersuchte Carvasept. —

Nachdem im Jahre 1832 bereits von Reichenbach (1) aus dem Holzteer ein Gemisch von Phenoläthern und Phenol isoliert worden war, gelang es zuerst Runge (1) die rohe Karbolsäure aus dem Steinkohlenteer darzustellen und ihre antiseptische Wirkung darzutun. Diese Wirkung führte er auf die Bildung von unlöslichen Eiweißverbindungen, also auf Nährbodenverschlechterung, zurück. Im Jahre 1867 fand die Karbolsäure, chemisch als Hydroxyl-Benzol zu bezeichnen, durch Lister in der chirurgischen Antisepsis Eingang. —



Verfolgt man die Geschichte des Phenols und seiner Abkömmlinge, so zieht sich von Anfang an ein roter Faden hindurch, und das ist der Kampf um die Wasserlöslichkeit. Im Jahre 1866 hat Wiederhold (1), da die Schwerlöslichkeit der rohen Karbolsäure in Wasser seine Brauchbarkeit beeinträchtigte, auf die Lösung in Schwefelsäure hingewiesen,

ein Gedanke, den im Jahre 1887 Laplace aufgegriffen hat. Die Aetzwirkung der Schwefelsäure führte schon im Jahre 1874 bei der Suche nach einem nicht ätzenden Lösungsmittel der Karbolsäure auf den Gedanken der Anwendung von Seife als Lösungsmittel, indem Henle (2) Karbolsäurelösungen durch Seifenzusatz herstellte. —

Seit dem Jahre 1889 haben im Gegensatz zu den Feststellungen von Runge (1) die Untersuchungen von C. Fraenkel (3) ergeben, daß durch die Behandlung mit Schwefelsäure die in der rohen Karbolsäure vorhandenen Kresole, die in reinem Wasser unlöslich sind, das desinfizierende Element sind. Durch diese Untersuchungen wurde die Aufmerksamkeit auf die Kresole gelenkt. Diese stammen ebenso wie das Phenol aus der Destillation der Steinkohle und sind chemisch als Mono-Methyl-Phenole zu bezeichnen. Sie sind als Rohkresole bezw. dessen Reindarstellungen Ortho-, Meta- und Parakresole in den Handel gekommen. Eine Mischung der drei Isomeren ist bekannt als Trikresol, Scheringer (4).

Mögen auch die Kresole eine etwas höhere Desinfektionskraft besitzen, so stehen sie doch an Giftigkeit und schlechter Wasserlöslichkeit der Karbolsäure kaum nach. In Wasser sind sie sogar noch weniger löslich als die Karbolsäure, wodurch ihre Brauchbarkeit beeinträchtigt wird. Durch Alkaliseifen hat man eine höhere Wasserlöslichkeit erreicht. Der bekannteste Repräsentant ist das Fabrikpräparat Lysol, eine Mischung von Kaliseifen und Rohkresolen. —

Zwei weitere höhere, einwertige Phenole sind Thymol und Carvacrol, die sich untereinander nur durch die Stellung der Oxygruppe unterscheiden.

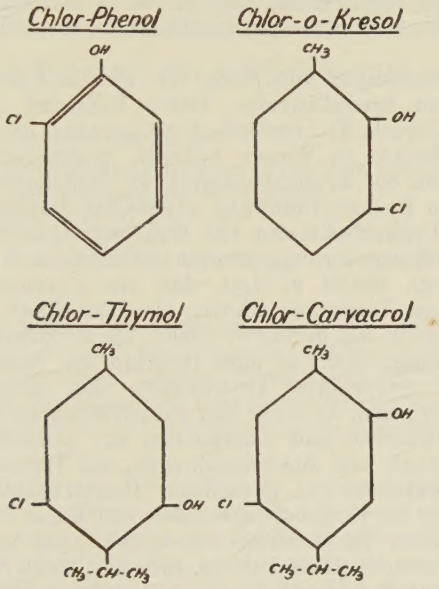
Beide leiten sich ab von einem höheren Kohlenwasserstoff, p-Methylisopropylbenzol oder Cymol. Robert Koch hat nach Laubenheimer (5) zuerst die antiseptischen Eigenschaften des Thymols geprüft. Lubenau (6) fand im Jahre 1907, daß sich Thymol auch bei organischem Substrat als ein kräftig wirkendes Desinfektionsmittel erwies und für die Körperzellen bei Warmblütern nahezu ungiftig war. „Leider", so sagt er, „stehen der Lösung des Thymols in Wasser bekanntlich große Schwierigkeiten entgegen". Lubenau gibt eine Methode zur Herstellung einer 2%igen Lösung des Thymols in destilliertem Wasser an (5% Liquor Natrii caustici, evtl. mit Zusatz von 10%igem Alkohol). Laubenheimer (5) hat dann zuerst ein durch Seifen in beliebigen Konzentrationen wasserlöslich gemachtes Thymol eingehend geprüft. Dieses Präparat zeigte eine sehr hohe keimtötende Wirkung. Es vermochte eine 1%ige Lösung von Thymol in sulforizinolsaurem Natrium Staphylokokken, in 3', eine gleiche Lösung in dioxystearinsaurem Kali in 2' abzutöten. Kuhn (7) hat 1930 Thymol- und Carvacrolseifenlösungen untersucht und fand für die Thymol enthaltende Seifenlösung (Präp. 963) einen Phenolkoeffizienten *) von 22 bei Staphylokokken und von 25 bei Kolibakterien und für die Carvacrol enthaltende Seifenlösung (Präp. 1005) einen Phenolkoeffizienten von 36 bei Staphylokokken und 20 bei Kolibakterien. Sonst ist über Carvacrol nur bekannt, daß seine desinfizierende Kraft der des Thymol gleichkommen soll. Bei Thymol wirkt, auch nach Angabe anderer Untersucher der eigentümliche Blumengeruch, der anfangs angenehm ist, auf die Dauer unbehaglich.

---

*) Phenolkoeffizient = P—K, ist die Zahl, die angibt, wievielmal die Desinfektionskraft eines Desinfektionsmittels auf gleiche Zeit bezogen stärker ist, als diejenige der Karbolsäure. —

Thymol und Carvacrol sind weniger giftig als Kresole, da sie schwer resorbiert werden. Als Desinfizienzien werden sie wenig gebraucht. —

Die weiteren Bemühungen der Desinfektionsmittelindustrie gingen von den Gedanken aus, durch Einführung von Halogenatomen in den Kern der Phenole ihre Desinfektionskraft zu steigern. Dies ist zwar gelungen, doch wurde diese Besserung durch die noch geringere Löslichkeit der Halogenphenole in Wasser in den Schatten gestellt. Außer der geringen Löslichkeit in Wasser haben die Halogenphenole noch einen weiteren Nachteil. Diese Präparate haben leider einen sehr unangenehmen Apothekengeruch und- geschmack.



Auf die einzelnen Halogenphenole einzugehen, würde den Rahmen dieser Arbeit überschreiten. Eingegangen werden soll nur auf das Chlor-m-Kresol, dessen entwicklungshemmende Kraft bei geringem Geruch groß ist. Es kommt als Phobrol, Parol, Grotan, Kodan und, im Gemisch mit Chlorxylenol in Seifenlösung, als Sagrotan in den Handel. In der Desinfektionspraxis hat es sich in der Form der genannten Präparate gut bewährt. —

Laubenheimer (6) kam nun auf den Gedanken, durch Einführung von Chlor auch die Desinfektionskraft des Thymol zu steigern. Auf seine Anregung stellte Goedrich in München ein Chlorthymol-Präparat, nämlich „Lavasan" her. Heute ist es nach Angabe der Firma (Lavasteril-Vertrieb G. m. b. H., München) als „Lavasteril" im Handel. Nach ihrer Angabe sind in Lavasteril synthetisch hergestellte gechlorte Thymole und Kresole in hochkolloidaler Form. Nach Gutachten von Laubenheimer (8) und Kißkalt (9) wurden im Suspensionsversuch Kolibakterien und Staphylokokken in 1,5%iger Lösung in 1′ stets abgetötet. Die Entwicklungshemmung des „Lavasans" liegt nach Laubenheimer

bei 1/1000 bis 1/2000. Nach seinen Angaben soll es das Sagrotan um das Dreifache, das Sublimat um das Vierzigfache übertreffen. Diese Erfahrung, daß die Einführung von Halogenatomen die Desinfektionskraft steigert, haben Philipp & Kuhn (7) (10) veranlaßt, weitere Chlorthymol und Chlorcarvacrolpräparate herzustellen. Um eine bessere Löslichkeit zu erreichen, stellten sie Lösungen von Chlorthymol mit Hilfe von Seifenlösungen und anderen Lösungsmitteln her. Die Präparate 984 und 985 hatten nach Versuchen in Verdünnungen mit destilliertem Wasser in 10′ gegenüber Staphylokokken (Kolibakterien) einen Phenolkoeffizienten von 136 (155) und 145 (15). —

Philipp (10) ist es dann auch gelungen, durch direkte Chlorierung des dem Thymol isomeren Carvacrol, ein Monochlorcarvacrol herzustellen, das unter dem geschützten Namen „Carvasept" in den Handel gekommen ist. Es sind bisher 4 Veröffentlichungen über Carvasept erschienen.

Nach Untersuchungen von Kuhn (11) ist das Carvasept ein verfeinertes Phenol in kristallisierter, fester Substanz von angenehmem, thymolartigem Geruch. Er ermittelte für Carvasept als Phenolkoeffizienten, auf die Substanz in Wasser bezogen, gegenüber Staphylokokken 130, Kolibakterien 60, Typhusbakterien 45, Ruhrbakterien vom Shiga-Kruse-Typ 50, in Brüheverdünnung gegenüber Staphylokokken 70, Kolibakterien 10, Typhusbakterien 160, Ruhrbakterien 70.

Bei Untersuchung von organischen Substanzen z. B. von Vakzinen, Serum und dergl. stellte er fest, daß ein Carvasept-Zusatz bis zu 1/1000 sie vor dem Verderben schützt. Die Löslichkeit des Carvasept in Wasser bezeichnet er als gering (1 : 6000). Diese schwere Löslichkeit des Carvasept in Wasser sieht er aber insofern als Vorteil an, als es bei innerlicher und äußerlicher Verwendung vom menschlichen Körper schwer resorbiert wird. Er sieht das Präparat daher auch zur Herstellung von Mundwässern und Zahnpasten, zur Desinfektion von Zahnpulpen, für Vaginal- und Blasenspülungen, zur Händedesinfektion, zur Behandlung infektiöser und parasitärer Hauterkrankungen als geeignet an. Besonders hervorgehoben werden von Kuhn (7) Chlorcarvacrolpräparate, die unter Verwendung von Seifenlösung und carvacroxacetsaurem Natron hergestellt sind (Präp. 1006 und 1007). Nach den Angaben betragen die Phenolkoeffizienten gegenüber Staphylokokken (Kolibakterien) bei Verdünnungen in destilliertem Wasser (in Nährbrühe):

Präparat 1006:	170 (13)	= P—K *)
	160 (3)	= P—KB
Präparat 1007:	180 (104)	= P—K
	190 (55)	= P—KB.

Nach den Untersuchungen von Kochmann (7) beträgt die Giftigkeit des Carvasept die Hälfte vom Thymol und ein Viertel vom Phenol. Kuhn kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu dem Schluß, daß das Anwendungsgebiet des Carvasept überall da liegt, wo man bisher einerseits Karbolsäure, andererseits Thymol verwandt hat. —

Stickdorn (12) ermittelte als Phenolkoeffizient des Carvasept in 24stündigen Brühekulturen gegenüber Staphylokokken 50, Kolibakterien 10, Streptokokken 100, Schweineseuchenbazillen 25, Rotlaufbazillen 50. Bei der Sterilisierung eines keimhaltigen Serums erreichte er mit einer

*) P—K = Phenolkoeffizient in destilliertem Wasser
P—KB = Phenolkoeffizient in Nährbrühe.

auf die Substanz berechneten 0,5%igen Lösung völlige Keimfreiheit innerhalb eines Tages, während mit 0,5%iger Phenollösung acht Tage dazu nötig waren. Zur Erhaltung sterilgewonnenen Serums in offenen Flaschen benötigte er einen Zusatz von 0,1% Carvasept. Als Übelstand bemerkte er, daß stärkere Konzentrationen des Carvasept bis zu 0,2% herab eine starke Trübung des Serums und Ausfällung von Eiweißkörpern verursachen. —

Weichardt (13) untersuchte auch den Phenolkoeffizienten des Carvasept in Wasser und erhielt gegenüber Staphylokokken 120, Kolibakterien 60, Typhusbakterien 35.

Bei diesen hauptsächlich auf die konservierende Fähigkeit bezüglichen Untersuchungen gewährleistete ein Zusatz in einer Verdünnung von 1 : 1000—1 : 2000 zu leicht verderblichen organischen Substanzen eine ausreichende Konservierung unter gewöhnlichen Bedingungen. —

Es werden dem Carvasept also folgende Vorzüge nachgerühmt:

1. angenehmer Geruch,
2. sehr große Desinfektionskraft,
3. bedeutend überlegene Wirkung gegenüber Phenol bei der Konservierung von organischen Substanzen,
4. relativ geringe Giftigkeit,
5. Steigerung der Löslichkeit in wässriger Lösung durch Zugabe von Lösesalzen.

Diese Vorzüge legten den Gedanken nahe, das Mittel auf seine Eignung als Entkeimungs- und Konservierungsmittel in der bakteriologischen und immunologischen Laboratoriumspraxis zu untersuchen. Ein solches Mittel fehlt vor allem für solche Substanzen, deren Eignung als Impfstoff oder Antigen durch Sterilfiltration beeinträchtigt oder aufgehoben wird. —

Carvasept ist eine gut kristallisierte, trockene Substanz, die verschlossen und trocken aufbewahrt werden muß, da sie sehr stark Wasser anzieht. Schon ein öfteres Öffnen des Behälters genügt, um die Trockenheit der Kristalle zu ändern. So war es auch bei unseren Versuchen, wo der Behälter oft geöffnet werden mußte. Die Kristalle waren bald alle feucht und verbacken. —

Der Geruch ist mehr chlor- als thymolartig. Besonders ist das von der 5%igen Carvaseptseifenlösung (1006c) zu sagen, die wir zur Händedesinfektion benutzen wollten. Wir stellen einige Becken mit dieser Desinfektionslösung in die Laboratorien. Es war aber wegen des Geruchs unmöglich, den Versuch lange durchzuhalten, denn die Institutsangehörigen verlangten wieder nach ihrem alten Händedesinfektionsmittel, Sagrotan. Aus diesem Grunde sind die Versuche der Händedesinfektion mit der Carvaseptseifenlösung (1006c) nicht ausgeführt worden. —

Unsere Versuche begannen wir mit der Untersuchung der Löslichkeit des Carvasept. Nach Angabe der Firma lösten wir die Substanz in 40%igem Alkohol. Wir bereiteten uns eine 5%ige Stammlösung, d. h. 500 mg wurden in 10 ccm 40%igem Alkohol gelöst. Von dieser Stammlösung wurden nun die niedrigeren Konzentrationen unter Zugabe von 40%igem Alkohol hergestellt. Fügt man Wasser hinzu, so wird die Lösung stark milchig getrübt und undurchsichtig, da die Wasserlöslichkeit nur 1/5000—1/6000 beträgt. Bei Konzentrationen bis zu 0,05% erzielte ich selbst unter Zusatz von Lösesalzen, nach Angaben der Firma carva-

croacetsaurem- bezw. cresoacetsaurem Natron, keine vollständige Auflösung. —

Für die in Betracht kommenden Versuche in eiweißhaltigen Medien benötigten wir, was später noch ausführlicher behandelt wird, Konzentrationen bis zu 0,1%. Dabei traten Trübungen und starke Ausfällungen von Eiweißkörpern auf, die die praktische Verwendung des Carvasept auf dem genannten Gebiete in weitem Umfange beeinträchtigten. Stickdorn weist am Schlusse seiner Arbeit, wie schon früher ausgeführt, auf diesen Übelstand des Carvasept in eiweißhaltigem Medium bei stärkeren Konzentrationen bis zu 0,2% herab hin. —

Die geringe Löslichkeit des Carvasept in Wasser zwang uns, von Stammlösungen auszugehen, die mit 40%igem Alkohol angesetzt waren, um seine bakterizide Wirkung festzustellen. Zum Vergleich wurden Phenol, Meta-Kresol, Thymol und, um auch ein anderes Desinfektionsmittel hinzuzunehmen, das nicht in die Reihe der Phenole gehört, Chinosol in weitgehendem Maße berücksichtigt. Um die gleichen Bedingungen zu wahren, wurden bei der Prüfung dieser Mittel ebenfalls Stammlösungen, die 40%igen Alkohol enthielten, verwandt. —

Ist auch die Desinfektionskraft des Phenols schon oft und ausgiebig geprüft worden, so prüften wir es lediglich mit, weil es nach der Methode von Rideal-Walker gebräuchlich ist, die Desinfektionskraft eines Antiseptikums durch Vergleich mit der des Phenols als Phenolkoeffizienten anzugeben. Diesen erhält man dadurch, daß man die in gleichen Zeiten zur Abtötung einer Keimart notwendige Mindestkonzentration von Phenollösung und der zu untersuchenden Desinfektionslösung dividiert. —

Es muß an dieser Stelle darauf hingewiesen werden, daß Schwankungen in den Angaben des Phenolkoeffizienten keine Seltenheit sind. Lassen wir Weyrauch (14) an dieser Stelle das Wort: „Wenn man die Ergebnisse über Desinfektionsmittelversuche vergleicht, kommen die Untersucher, selbst wenn sie mit gleichem Stamm und gleicher Versuchsanordnung arbeiten, zu etwas abweichenden Resultaten; denn die Versuchsbedingungen sind nicht immer dieselben. Der Grad der Dichtigkeit der Suspension hat auf das Ergebnis von Desinfektionsmittelversuchen einen großen Einfluß. Auch Art und Beschaffenheit der Nährböden erfordern eine besondere Beachtung.“ Um das Mittel auf seine Eignung in der Praxis zu prüfen, habe ich die Gepflogenheit der Prüfung bei einer konstanten Temperatur im Wasserbad bei 37° fallen gelassen und unter den Bedingungen der jeweiligen Zimmertemperatur die Versuche angesetzt. —

Als Testbakterien kamen Staphylokokken, Koli-, Typhus- und Ruhrbakterien (Shiga-Kruse-Typ) zur Anwendung.

Versuchsanordnung:

Zu je 9 ccm einer isotonischen Kochsalzlösung bezw. gewöhnlichen Nährbrühe wurde 1 ccm der Stammlösungen von Phenol, Meta-Kresol, Thymol, Chinosol und Carvasept in fallender Konzentration gegeben. Ein Tropfen einer frisch angesetzten Kultur — 10 beimpfte Schrägagarröhrchen wurden mit je 2 ccm Kochsalzlösung abgeschwemmt — wurde hinzugesetzt. Nach 5′, 10′, 30′ und 1^{h} wurde eine Öse entnommen und auf 5 ccm Nährbrühe übergeimpft. Diese Röhrchen wurden 24^{h}, 48^{h} und 96^{h} bei 37° Brutschranktemperatur bebrütet und dann abgelesen. Um uns vor Täuschungen zu schützen, verwandten wir im Sinne von Süpfle und Dengler (15) zur Nachkultur feste, spezifisch optimale Nährböden

für die in Frage kommenden Bakterien. Es wurde eine Öse auf Ascites-, Endo- oder Agarplatten ausgestrichen. Das Keimtötungsvermögen der oben erwähnten Desinfektionsmittel — nicht die Hemmung des Wachstums der Bakterien — in isotonischer Kochsalzlösung und gewöhnlicher Nährbrühe zeigt folgende

Tabelle:

Phenolkoeffizient bei: I Na Cl / II gew. Nährbrühe } Verdünnung					
Desinfektionsmittel		Staphylokokken	Colibakterien	Typhusbakterien	Kruse-Shigabakterien
Carvasept	I	110	70	40	50
	II	60	20	40	45
Thymol	I	25	25	25	30
	II	8	8	10	10
Meta-Kresol	I	2	2,5	3	3
	II	1,4	1,8	2	2
Chinosol	I	0,7	0,5	0,5	0,6
	II	0,5	0,5	0,5	0,5

Die Zusammenstellung der Phenolkoeffizienten zeigt die höchsten Werte bei Carvasept, woraus sich ergibt, daß seine keimtötende Wirksamkeit noch bei sehr niedrigen Konzentrationen besteht. So erhielten wir gegenüber Staphylokokken in Na-Cl-Lösung (gewöhnlicher Nährbrühe) 110 (60), Koli 60 (20), Typhus 40 (40), Ruhrbakterien vom Shiga-Kruse-Typ 50 (45). —

Um einen besseren Vergleich mit unseren und den von anderen Untersuchern gefundenen Phenolkoeffizienten zu haben, seien hier noch einmal die von Kuhn, Stickdorn und Weichardt gefundenen Werte für Carvasept angeführt. —

Tabelle:

Phenolkoeffizient bei: I H_2O / II gew. Nährbrühe } Verdünnung					
Desinfektionsmittel Carvasept		Staphylokokken	Kolibakterien	Typhusbakterien	Ruhrbakterien
Kuhn:	I	130	60	45	50
	II	70	10	160	70
Stickdorn:	I	—	—	—	—
	II	50	10	—	—
Weichardt:	I	120	60	35	—
	II	—	—	—	—

Auffallend abweichend von unseren Resultaten sind die Werte von Kuhn für Typhus- und Ruhrbazillen in Brüheverdünnung. —

Die Werte für Thymol sind, wie aus der Tabelle ersichtlich ist, noch verhältnismäßig günstig, was bei Meta-Kresol und ganz besonders bei Chinosol nicht zutrifft. Weyrauch (14) ist für Meta-Kresol und Heubner mit Siegel (16) sind für Chinosol zu dem gleichen Ergebnis gekommen.

Das Carvasept besitzt also in isotonischer Kochsalzlösung und Brüheverdünnung nach unseren Versuchen eine ganz ansprechende Desinfektionskraft und übertrifft hierin das reine Thymol weitaus. —

Nachdem wir uns so von der Desinfektionskraft des Carvasept überzeugt hatten, setzten wir mit ihm, dem am besten wirksamen Mittel, unsere Untersuchungen in einem stark eiweißhaltigem Nährmedium, nämlich Rinderserum, fort, da wir es auf seine konservierende Fähigkeit von leicht verderblichen Substanzen hin untersuchen wollten. Um die bakteriziden Eigenschaften des Carvasept in Serum zu ermitteln, stellten wir folgende Versuche an:

Methode:

Das frisch vom Schlachthof gelieferte Rinderserum wurde, um ein klares Serum zu erhalten, zentrifugiert. Eine Portion des Serums wurde filtriert und keimfrei gemacht, die andere blieb unbehandelt und keimhaltig. Zu dem unbehandelten, keimhaltigen Serum gaben wir Carvaseptlösungen bis zu Endkonzentrationen von 1 : 500 bis 1 : 5000. Die angesetzten Versuche mit dem keimhaltigen Serum stellten wir in den Eisschrank und prüften sie nach 24^h, 48^h und 96^h auf ihren Keimgehalt. Zu dem filtrierten und keimfrei gemachten Serum gaben wir tropfenweise Staphylokokken, Koli-, Typhus- und Shiga-Krusebakterien, Milzbrand- und Subtilisbazillen. Nach 5′, 10′, 30′, 1^h und 24^h wurde eine Öse entnommen und auf 5 ccm Nährbrühe übergeimpft. Diese Röhrchen wurden 24^h, 48^h und 96^h bei 37° Brutschranktemperatur bebrütet und abgelesen. Zur Nachkultur wurde eine Öse auf Ascites-, Endo- oder Agarplatten ausgestrichen.

Die Desinfektionskraft des Carvasept auf sporen- und nicht sporenbildende Keime zeigt uns die folgende Tabelle. Als Grenze der Wirkung des Carvasept in Serum erhielten wir für:

Tabelle:

Staphylokokken	*1:1500*	– –
Koli	*1:1000*	–
Shiga-Kruse	*1:1000*	–
Typhus	*1:800*	–
Milzbrand	*1:500*	+ +
Subtilis	*1:500*	+ +

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, konnten wir selbst in einer Konzentration von 1 : 500 Sporenbildner, wie Milzbrand und Subtilis, nicht abtöten.

Im wesentlichen stimmen die von uns gefundenen Werte mit denen von Weichardt überein. Doch selbst in isotonischer Kochsalzlösung angesetzte Versuche mit Subtilis erbrachten im Gegensatz zu Weichardt auch nach 7 Tagen in einer Konzentration von 1 : 500 keine Abtötung.

Für das unbehandelte, keimhaltige (so wie es vom Schlachthof gekommen war), mit Carvasept versetzte Serum ergab die Sterilitätsprüfung unterschiedliche Resultate. War das Serum von vornherein nicht allzusehr mit Bakterien (nicht sporenbildenden) verunreinigt, so konnte es mit einer Endkonzentration von 1 : 1000 nach 24h keimfrei gemacht werden. War das Serum jedoch mit Sporen und Schimmelpilzen verunreinigt, so konnte eine Sterilisierung selbst bei einer Konzentration von 1 : 500 innerhalb mehrerer Tage nicht erzielt werden. Das war ja auch nach unseren Versuchen mit Milzbrand- und Subtilisbazillen nicht anders zu erwarten. —

In diesem Zusammenhange sei auf eine Arbeit von Herzberg (17) hingewiesen, der zusammenfassend folgende Anforderungen an ein Konservierungsmittel für Immunserum stellt:

1. es darf den Titer auf die Dauer eines Jahres nicht beeinflussen,
2. es muß das Wachstum von Mikroorganismen in den Sera verhindern,
3. es soll Farbe und Klarheit des Serums nicht verändern,
4. der konservierende Zusatz darf nicht giftig sein, eine Forderung, die auf Hinz (17) zurückgeht.

Herzberg geht noch einen Schritt weiter, indem er sagt:

„Der Serumhersteller hat noch den Wunsch, daß das Konservierungsmittel handlich und billig ist." —

Nach den von Herzberg (17) aufgestellten Anforderungen an ein Konservierungsmittel für Immunserum beurteilen wir das Carvasept. —

Untersuchungen von Kochmann (Halle) (7) ergaben, wie schon erwähnt, für die Giftigkeit des Carvasept etwa $^1/_4$ der Karbolsäure und $^1/_2$ des Thymols. Kaninchen wurden von uns, um die Verträglichkeit und Giftigkeit des Carvasept zu prüfen, 4 Tage hintereinander 10 bis 20 mg des Carvasept in physiologischer Na-Cl-Lösung intravenös gespritzt. Da das Körpergewicht der Kaninchen nicht zurückging und keine üblen Nebenerscheinungen auftraten, gingen wir zur Herstellung diagnotischer Sera unter Verwendung von Carvasept über. —

Methode:

Es wurde eine homogene Paratyphus-B-Aufschwemmung hergestellt, indem — 10 beimpfte Schrägagarröhrchen, die 24h bei 37° Brutschranktemperatur bebrütet waren, mit je 2 ccm 0,85%iger Na-Cl-Lösung abgeschwemmt und auf 30 ccm aufgefüllt wurden.

a) 15 ccm der Paratyphus-B-Aufschwemmung in je 3 Röhrchen zu je 5 ccm wurden auf 57° $1^1/_2$h erwärmt. Zu dieser Aufschwemmung wurde kein Mittel hinzugegeben.

b) Zu den anderen 15 ccm der Aufschwemmung wurden 1,5 ccm einer 1%igen Carvaseptlösung, Endkonzentration 1 : 1000, hinzugegeben.

Mit der durch Hitze und der anderen durch Carvasept abgetöteten Bakterienkultur wurden je 3 Kaninchen jeden 5. Tag in steigenden Dosen von $^1/_{10}$ bis 4 Ösen mit Verdünnungen in Na-Cl-Lösung intravenös gespritzt. Vor jeder Einspritzung wurde nun das Gewicht, das wir in der folgenden Tabelle anführen, festgestellt. —

Tabelle:

Hitze - P_B - Aufschwemmung	14/8	19/8	24/8	29/8	3/9	8/9	15/9
P_B Nr. 3502	2550 gr	2870	2400	2550	2450	2350	2400
" " 3382	2350 gr	2540	2350	2350	2400	2300	2300
" " 3452	2770 gr	2950	2350	2200	2250	† 5/9	—

Ca - P_B - Aufschwemmung	14/8	19/8	24/8	29/8	3/9	8/9	15/9
Ca Nr. 1406	2450 gr	2800	2400	2600	2500	2400	2450
" " 3215	2250 gr	2750	2450	2600	2550	2500	2620
" " 3213	2320 gr	2670	2350	2400	2500	2350	2450

Aus dieser Tabelle ergab sich, daß alle mit Carvasept behandelten Tiere am Leben blieben und nichts an Gewicht einbüßten, während bei der anderen Gruppe der Verlust eines Tieres zu verzeichnen war.

Die Nachprüfung der Aufschwemmung ergab, daß im Laufe der Zeit die durch Hitze abgetötete Aufschwemmung mit Bakterien sehr verunreinigt, während die mit Carvasept behandelte vollständig steril geblieben war. — Nach dem 10. Tage der letzten Injektion wurde den Kaninchen 20 ccm Blut entnommen und das Serum auf seinen Agglutinationstiter hin untersucht. Wir erhielten mit Hilfe des von Gildemeister und Herzberg angegebenen Lampenagglutinoskops, das über eine konstante Lichtquelle verfügt, folgende Agglutinationstiter:

a) Von dem Serum der Kaninchen, deren Behandlung mit einer durch Carvasept abgetöteten P_B -Aufschwemmung erfolgt war,

b) von dem Serum der Kaninchen, die mit einer durch Hitze abgetöteten P_B -Aufschwemmung behandelt waren:

Tabelle:

zu a)		zu b)	
500	++	500	+++
1000	++	1000	+++
2000	++	2000	+++
4000	+	4000	++
8000	+	8000	+
16000	±	16000	+
32000	−	32000	+
64000	−	64000	±

Aus der Tabelle ergibt sich mithin, daß der Agglutinationstiter des von Kaninchen, die mit einer durch Hitze abgetöteten P_B-Aufschwemmung behandelt waren, gewonnenen Serums viel höher war, als der Agglutinationstiter des Serums der anderen Kaninchen.

Die Aufbewahrung des Serums zur späteren Nachprüfung geschah in braunen, festverschlossenen Flaschen im Eisschrank unter Zugabe von Carvasept in einer Endkonzentration von 1 : 1000. Das Wachstum von Mikroorganismen war trotz mehrmaliger Öffnung zur Nachprüfung innerhalb von 2 Monaten verhindert worden. Jedoch war innerhalb dieser Zeit der Titer bei

a) auf 1 : 2000
b) auf 1 : 12000

gesunken. —

Auch bei diesem Versuch zeigte sich der große Nachteil, die schleimig-flockige Trübung und Ausfällung in eiweißhaltigem Material.

Die Menge des Carvasept, die den Kaninchen bei den Versuchen intravenös gespritzt wurde, war für diese erträglich. —

An Hand der oben von Herzberg (17) aufgestellten Forderungen war das Carvasept als Konservierungsmittel für diagnostische Sera

1. wegen des schnellen Sinkens des Titers.

2. wegen der auch in anderen Versuchen

erwähnten unangenehm starken, schleimig-flockigen Trübung und Ausfällung von Eiweißkörpern bei der zur Konservierung notwendigen Endkonzentration von 1 : 1000 nicht geeignet. —

Als nächste Aufgabe stellten wir uns die Immunisierung von Meerschweinchen gegen Diphtherie mit einer durch Carvasept und Formalin abgetöteten virulenten Diphtheriebrühekultur, deren Virulenz durch Zusatz geringer, ungiftiger Mengen der eben erwähnten Mittel abgeschwächt war. —

Methode:

In ein breites Kölbchen von 20 ccm Aldershoffscher-Brühe wurde eine Öse einer virulenten Diphtheriekultur übergeimpft. Sieben Tage bis zur Höhe der Toxizität (nach Kolle-Hetsch) (18) wurde sie bei 37° Brutschranktemperatur bebrütet.

Die Höhe der toxischen Wirkung zeigte sich an zwei Meerschweinchen, die mit 0,01 der frischen Diphtheriekultur intracutan gespritzt waren. Sie starben innerhalb 24h. —

Einer Portion der Aldershoffschen-Brühe wurde Carvasept in einer Endkonzentration von 1 : 1000, der anderen Portion Formalin in einer Endkonzentration von 1 : 50 zur Abtötung der Diphtheriekultur hinzugegeben. In dunklen Flaschen bei 37° Brutschranktemperatur aufbewahrt, prüften wir sie am 10. Tage auf ihre Sterilität. Bakterienwachstum war nicht mehr festzustellen. Dosen steigend von 0,01 bis 0,05 ccm der abgetöteten Diphtheriekultur wurden den Meerschweinchen jeden 5. Tag unter die Bauchhaut eingespritzt. Bei Anwendung der höheren Dosen traten bei den Meerschweinchen Nekrosen auf. Und zwar war dies bei allen Tieren der Fall, gleichgültig, ob die verwandten Diphtheriekulturen mit Carvasept abgetötet worden waren oder mit Formalin. Bei den mit Formalin behandelten Tieren hatten wir schon nach der 4. Injektion (0,04) zwei Verluste zu verzeichnen. Zwei Tage nach der letzten Injektion (0,05) verloren wir noch das letzte mit abgetöteter

Formalin-Diphtheriekultur behandelte Meerschweinchen, wie auch die drei mit abgetöteter Carvasept-Diphtheriekultur behandelten.

Die Immunisierung der Tiere war also nicht geglückt, sodaß wir von weiteren Versuchen absahen. —

Würde sich Carvasept vielleicht zur Sterilisierung einer Lapine eignen? Diese Frage lag um so näher, da wir zu ihrer Keimfreimachung kein gutes Verfahren kennen außer der Hitzesterilisierung. Doch werden durch die Hitzesterilisierung die Virusteilchen, die in der Lapine enthalten sind, zerstört. Folgender Versuch soll uns darüber Aufschluß geben:

Von einem Kaninchen, das mit hochwertiger Lymphe geimpft war, wurde am vierten Tage auf der Höhe der Eruption, nachdem es getötet war, von der geimpften Stelle Haut entnommen. Diese wurde zerkleinert und mit 15 ccm 0,85%iger Na-Cl-Lösung vermengt. Ein Teil der so erhaltenen Lapine blieb unbehandelt, der andere Teil wurde mit Carvasept bis zu einer Endkonzentration von 1 : 1000 versetzt. Die Lapine wurde in den Eisschrank gestellt und nach 14 und 28 Tagen auf ihren Gehalt an Staphylokokken untersucht. Es wurde keine wesentliche Abtötung durch Carvasept festgestellt, sodaß auch dieser Versuch als negativ bezeichnet werden muß. —

Bei den Versuchen in eiweißhaltigem Material hatte sich herausgestellt, daß Koli- und Typhusbakterien in verschiedenen Konzentrationen abgetötet wurden. Aus diesem Grunde glaubten wir ein ähnliches Verfahren, wie wir es in Malachitgrünagar kennen, unter Zugabe von Carvasept zu Paratyphus-B und kolihaltigem Stuhl ausarbeiten zu können. —

M e t h o d e :

Zu einer mit Paratyphus-B-Stuhl versetzten Nährbrühe wurde Carvasept in einer Endkonzentration von 1 : 1000 gegeben. Angesetzt um 11^h wurde sie nach sieben Stunden um 18^h ausgestrichen.

a) Von der Oberfläche wurde eine Öse genommen; hier zeigte sich ein gutes Wachstum von Paratyphus-B und eine vollständige Hemmung von Koli.

b) Auch nach Umschütteln der mit Stuhl und Paratyphus-B versetzten Nährbrühe wurde eine Öse entnommen und ausgestrichen. Hier zeigte sich gleichfalls ein gutes Wachstum von Paratyphus-B, jedoch traten nur 2 Kolikolonien in Erscheinung.

K o n t r o l l e : gutes Wachstum von Koli; auch Paratyphus-B war gut zu erkennen.

c) Bei einer Endkonzentration von Carvasept in einer mit Stuhl und Paratyphus-B versetzten Nährbrühe von 1 : 1500 ergaben Paratyphus-B und Koli gleich gutes Wachstum. —

Da bei genauer Einstellung der Malachitgrünagarplatten zur Voruntersuchung auf Paratyphus-B diese genauere Werte ergeben, hat auch dieser Versuch einen großen praktischen Wert nicht ergeben. —

Zusammenfassung:

Carvasept, als ein neues starkes Desinfektionsmittel gegenüber Phenol und Thymol zu bezeichnen, ist in Na-Cl-Lösung und gewöhnlicher Nährbrühe berechtigt. Vollständig versagt es in diesen Medien gegenüber der Abtötung von Sporenbildnern. In eiweißhaltigem Medium

sinkt seine keimtötende Wirksamkeit sehr. Bei der Konservierung von leicht verderblichen organischen Substanzen (Sera) tritt als Übelstand bei der notwendigen Endkonzentration von 1 :1000 die starke Trübung und Ausfällung von Eiweißkörpern in den Vordergrund. Aus eben demselben Grunde und infolge des schnellen Sinkens des Titers ist es zur Konservierung diagnostischer Sera ungeeignet. So gut seine Löslichkeit in Alkohol ist, so schlecht ist sie in wässriger Lösung trotz Zugabe der schon erwähnten Lösesalze (Firma). Der rote Faden der Schwerlöslichkeit in der Reihe der Phenole zieht sich also weiter bis zum Carvasept. Der Geruch ist in kleinen Mengen erträglich, jedoch in größeren Mengen (Händedesinfektion) unangenehm. Der Preis des Carvasept beträgt 25.— RM je Kilo. Es ist also etwa achtmal so teuer als Phenol. Die Anforderungen, die man an ein gutes Desinfektions- und Konservierungsmittel stellen muß, erfüllt Carvasept nur zum Teil. Irgendeine praktische Verwertung kommt solange nicht in Frage, als seine schwere Wasserlöslichkeit nicht behoben und sein starker Geruch nicht beseitigt wird. Wenn diesen Anforderungen Genüge getan würde, könnte Carvasept in die Reihe brauchbarer Desinfektionsmittel (Händedesinfektion, Mundspülung, Vaginal- und Blasenspülung, zur Behandlung infektiöser und parasitärer Hauterkrankungen) aufgenommen werden.

Literaturangabe:

1.) Hailer, E.: Die Desinfektion (Weils Handbuch der Hygiene), 1922, Bd. VIII, 898, 932, 953, 1098.

2.) Henle, A.: Über Creolin und seine wirksamen Bestandteile. Arch. f. Hyg. Bd. IX, Heft 2, 188.

3.) Fraenkel, C.: Die desinfizierenden Eigenschaften der Kresole, ein Beitrag zur Desinfektionsfrage. Zeitschr. f. Hyg. 1889, VI, 521.

4.) Seybold, Karl: Über die desinfizierende Wirkung des Meta-Kresols Hauff im Vergleich zu Orthokresol, Parakresol, Trikresol-Scheringer, Phenol und Guajakol. Zeitschr. f. Hyg. 1898, XXIX, 377.

5.) Laubenheimer, K.: Über Chlorthymol als Desinfektionsmittel. Med. Klinik 1930, 1074.

6.) Lubenau, C.: Zur Prüfung von Desinfektionsmitteln. Hyg. Rundschau 1907, 17, 266.

7.) Kuhn, Ph.: Über die Desinfektionswirkung von Thymol- und Carvacrolpräparaten. Arch. f. Hyg. und Bakteriologie 1930, 105, 18.

8.) Laubenheimer, K.: Gutachten, Staatliches Institut für experimentelle Therapie, Frankfurt a. M., 15. August 1929.

9.) Kisskalt, K.: Gutachten aus dem Hygienischen Institut der Universität München betr. Lavasteril.

10.) Philipp, C.: Über die Grundlagen der Gewinnung von Thymol- und Carvacrolpräparaten. Arch. f. Hyg. und Bakteriologie. 1930, 105, 15.

11.) Kuhn, Ph.: Über Carvasept, ein neues starkes Desinfektionsmittel aus der Thymolgruppe. Med. Klinik 1930, 28, 1047.

12.) Stickdorn, W.: Über die keimtötenden und entwicklungshemmenden Eigenschaften des Carvasept. Mitteilungen des Bakteriologischen- und Seruminstitutes Dr. Schreiber G. m. b. H., Landsberg (Warthe) Nr. 15, Festausgabe April 1931, 58.

13.) Weichardt, W.: Ein neues Desinfektionsmittel. Münch. Med. Wochenschrift 1931, 1515.

14.) Weyrauch, F.: Zur vergleichenden Prüfung von Desinfektionsmitteln, Zentralblatt f. Bakt. Orig. I. 1927, Bd. 103, 126.

15.) Süpfle, K. und Dengler, A.: Arch. f. Hyg. 1916, 85, 189.

16.) Heubner, W. und Siegel, R.: Klin. Wochenschrift 1926, 1709.

17.) Herzberg, K.: Vergleichende Untersuchung über die Konservierung agglutinierender Sera mit Karbolglycerin, Glycerin und Yatren. Zentralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Orig. 1925, 95, 245.

18.) Kolle-Hetsch: Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. 1929, Bd. 1, 263, 508, 516.

Lebenslauf.

Ich, Alois Müller, wurde am 14. 10. 1906 als Sohn des Volksschulrektors Johann Müller zu Düsseldorf geboren. Nachdem ich in Neuß das Gymnasium absolviert hatte, studierte ich in Münster ab S.S. 1927 Medizin. Im W.S. 1927/28 ging ich nach Bonn und legte dort nach fünf Semestern meine erste Staatsprüfung ab. Vom W.S. 1929/30 studierte ich an der Medizinischen Akademie in Düsseldorf und vollendete am 26. 11. 1933 nach insgesamt 6 klinischen Semestern mein Studium mit der Gesamtnote „Gut". Mein praktisches Jahr verbrachte ich zum Teil an der Medizinischen Klinik der Städt. Krankenanstalten zu Düsseldorf bei Herrn Prof. Dr. Edens und zum Teil an der Chirurgisch-Gynäkologischen Abteilung des Liebfrauen-Krankenhauses zu Düsseldorf bei Herrn Chefarzt Dr. Lang. Am 10. Dezember 1933 erhielt ich meine Approbation und werde anfangs Januar zur Sanitätsführerschule nach Potsdam gehen.